

# **AVALIAÇÃO DE LUZ BRANCA INTENSA MODULADA (LBIM) E DE ULTRAVIOLETA (UV-C) NO CONTROLE DE *Penicillium* spp. EM LARANJA PÓS-COLHEITA.**

BIANCA P. **CHICARONI** <sup>1</sup>; ELIANE A. **BENATO** <sup>2</sup>; JOSÉ MARIA M. **SIGRIST** <sup>3</sup>; MARIA FERNANDA P.M. DE **CASTRO** <sup>3</sup>; WASHINGTON **MELO** <sup>4</sup>; LUCIO **JORGE** <sup>4</sup>

Nº 10236

## **RESUMO**

O bolor verde, causado por *Penicillium digitatum*, é a principal doença em pós-colheita de frutos cítricos em todo o mundo. Fungicidas são utilizados para controlar esta doença, no entanto, é crescente a restrição ao uso de produtos químicos. O que gera considerável interesse em estratégias alternativas de controle de doenças pós-colheita, como o uso de tecnologias “limpas”. Dentre os tratamentos físicos está o uso radiação UV-C e de luz pulsante ou modulada. Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos da aplicação de Luz Branca Intensa Modulada (LBIM) e da radiação UV-C, no controle de *Penicillium* spp. *in vitro*, bem como, no desenvolvimento do Bolor Verde em laranja pós-colheita. Testou-se UV-C e LBIM em diferentes combinações de doses e de tempo/freqüências, respectivamente, sobre o crescimento micelial de isolados de *Penicillium* spp., bem como sobre laranjas inoculadas em dois diferentes tipos de testes: 1) efeito curativo - inoculação ocorreu 2 h antes do tratamento dos frutos, e 2) efeito protetivo - a inoculação foi feita 24 h após o tratamento dos frutos. Os resultados mostraram que nos testes com LBIM *in vitro*, o tratamento 15Hz15s apresentou os melhores resultados quanto a inibição do crescimento micelial dos dois fungos. Com UV-C, as doses acima de 1,41kJ.m<sup>-2</sup> e 0,85kJm<sup>-2</sup> foram as mais eficientes para *P. digitatum* e *P. italicum*, respectivamente. Nos testes com LBIM *in vivo*, tanto sobre efeito curativo como protetivo, a combinação 15Hz 60s foi a mais eficiente. Com UV-C, as doses de 0,5 e 15 kJ.m<sup>-2</sup> foram as melhores sobre o efeito curativo do bolor verde e as doses de 0,5 e 7,0 kJ.m<sup>-2</sup>, as melhores sobre o efeito protetivo nas laranjas.

1.Bolsista CNPq: Graduação em Eng. de Alimentos, FEA-Unicamp, Campinas – SP

2.Orientadora: Pesquisadora GEPC/ ITAL, Campinas- SP

3.Colaborador: Pesquisador GEPC/ ITAL, Campinas- SP

4.Colaborador: Pesquisador EMBRAPA, São Carlos- SP

## ABSTRACT

The green mold caused by *Penicillium digitatum*, is the major postharvest disease of citrus all over the world. Fungicides are used to control this disease, however, the use of chemicals has been continuously restricted. This situation generates considerable interest in alternative strategies to control postharvest diseases, such as the use of clean technologies. Among the physical treatments are the use of UV-C light and pulsed or modulated light. This work aimed to study the effects of intense white light Modulated (LBIM) and UV-C to control *Penicillium* spp. *in vitro*, as well as the development of green mold in oranges after harvest. Different UV-C doses and LBIM combinations of time and frequency were tested on the *Penicillium* spp mycelial growth. It was tested on inoculated oranges by carrying out two different types of tests: 1) curative effect - inoculation occurred 2 h before treatment of the fruit, and 2) protective effect - the inoculation was made 24 h after treatment of fruits. The results of the LBIM *in vitro* showed that the 15Hz15s treatment was the best one for the inhibition of mycelium growth of both fungi. UV-C doses above 1.41 and 0.85 kJ.m<sup>-2</sup> were the most efficient for *P. digitatum* and *P. italicum*, respectively. In tests with LBIM *in vivo*, the combination 15Hz 60s was the most efficient for protective and curative effects. UV-C doses of 0.5 and 15 kJ.m<sup>-2</sup> were the best on the curative effect of green mold and doses of 0.5 and 7.0 kJ.m<sup>-2</sup> were the best on the protective effect in oranges.

## INTRODUÇÃO

O bolor verde, causado por *Penicillium digitatum*, é a principal doença em pós-colheita de frutos cítricos em todo o mundo. Fungicidas são utilizados para controlar esta doença, no entanto, é crescente a restrição ao uso de produtos químicos, pois podem prejudicar a saúde dos consumidores e do meio ambiente, além de selecionar estirpes resistentes dos patógenos quando usados continuamente (FRANCO & BETTIOL, 2002).

Estes fatos têm ocasionado um considerável interesse em estratégias alternativas de controle de doenças pós-colheita, como o uso de tecnologias “limpas”, tais como, os tratamentos físicos (termoterapia, radiação ultravioleta, luz pulsante). Pretende-se, com o uso dessas tecnologias, complementar ou substituir a aplicação de fungicidas.

Dentre os tratamentos físicos está o uso de luz intensa pulsante, que é um método para descontaminação de superfícies de alimentos e embalagens. Geralmente, para obtenção de resultados melhores, utilizam-se métodos combinados entre UV-C, luz pulsante e tratamento térmico (banho térmico). Outra solução para melhorar o

processo de descontaminação de frutos é o uso da luz modulada (efeito fototérmico). A energia luminosa modulada, além de fotoinibir o desenvolvimento de microrganismos, também pode gerar o aquecimento controlado da superfície do fruto, produzindo, desse modo, uma descontaminação térmica.

Este trabalho teve como objetivo estudar os efeitos da aplicação de Luz Branca Intensa Modulada - LBIM (equipamento desenvolvido pela EMBRAPA/CNPDIA) e da radiação UV-C, no controle de *Penicillium* spp. *in vitro*, bem como, no desenvolvimento do Bolor Verde em laranja pós-colheita.

## MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente, foram obtidos vários isolados de *P. digitatum* e *P. italicum*, de frutos com sintomas de podridão coletados em pontos de venda de hortifrutícolas, bem como, isolados cedidos por outros laboratórios. Os isolados foram repicados para tubos com meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar), acrescido de 2 mL de óleo mineral esterilizado, para conservação. Antes de realizar os testes *in vitro* e *in vivo* com LBIM ou UV-C, realizou-se testes de patogenicidade com os isolados de *Penicillium*, visando selecionar os mais agressivos de *P. digitatum* e de *P. italicum* (ALFENAS & MAFIA, 2007; MENEZES, 2004).

Para os testes *in vitro*, transferiram-se discos de micélio de 3 mm de diâmetro, retirados da borda de colônias do patógeno, para o centro de placas de Petri, contendo meio de cultura BDA+oxitetraciclina. Nos testes em *P. italicum*, uma solução 0,05% de Tween<sup>80</sup> foi utilizada para remoção do excesso de esporos das colônias, estes foram descartados. Posteriormente, o disco de 3 mm de diâmetro foi retirado da placa. Em seguida, as placas (abertas) foram expostas, a 10 cm de distância das lâmpadas, às diferentes intensidades de luz LBIM ou UV-C e, posteriormente, mantidas em incubadora tipo B.O.D., a 25°C no escuro. A avaliação foi feita, diariamente, medindo-se o diâmetro das colônias em duas direções perpendiculares por até nove dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com pelo menos cinco repetições por tratamento.

Para os testes *in vivo*, preliminarmente, os frutos foram lavados com detergente neutro, sanitizados com hipoclorito de sódio e enxaguados em água corrente e, após secagem, submetidos à inoculação. Para a inoculação da laranja, preparou-se uma suspensão de esporos de *P. digitatum*, com aproximadamente  $10^5$  esporos.mL<sup>-1</sup>. Para melhor dispersão dos esporos, foi adicionado Tween<sup>20</sup>, na proporção de uma gota para 100 mL de suspensão. Em seguida, os frutos foram inoculados, em um ponto da

região equatorial, fazendo-se um microferimento (1-2 mm de profundidade) com auxílio de uma agulha, sobre o qual se aplicou 20 µL da suspensão de esporos. Dois diferentes tipos de testes foram realizados: 1) efeito curativo - inoculação ocorreu 2 h antes do tratamento dos frutos, e 2) efeito protetivo - a inoculação foi feita 24 h após o tratamento dos frutos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 15 ou 16 repetições por tratamento.

Análises físico-químicas, como cor da casca, pH, sólidos solúveis, acidez titulável e vitamina C, foram realizadas para avaliar os efeitos dos diferentes tratamentos de luz sobre os frutos. Em todos os testes, os frutos foram armazenados em câmara frigorífica em torno de  $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  /  $80\pm 5\%$  UR por até 10 dias. Periodicamente, foram realizadas análises fitopatológicas: incidência (número de frutos com podridão) e severidade da podridão (diâmetro das lesões com paquímetro).

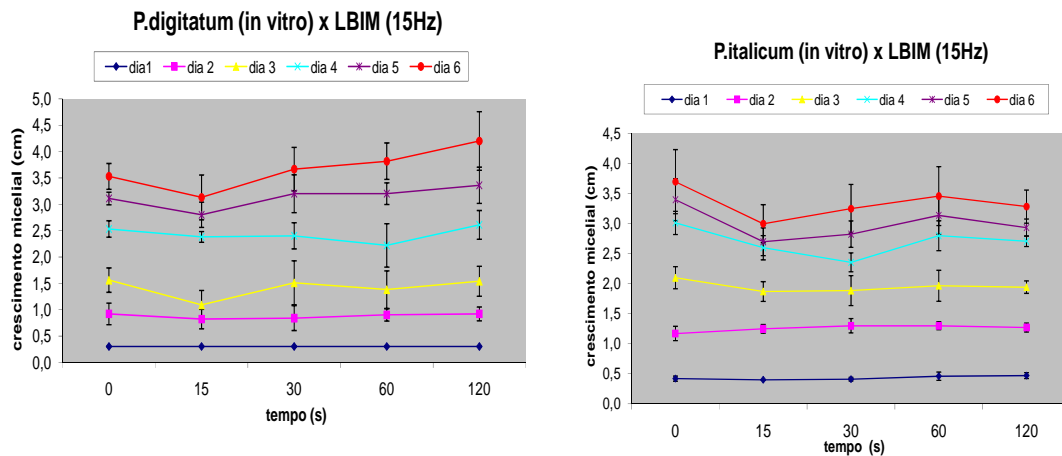
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes com LBIM *in vitro*, mostraram que para os dois fungos (*P. digitatum* e *P. italicum*) a combinação 15Hz/15s foi a mais eficiente na inibição do crescimento micelial.

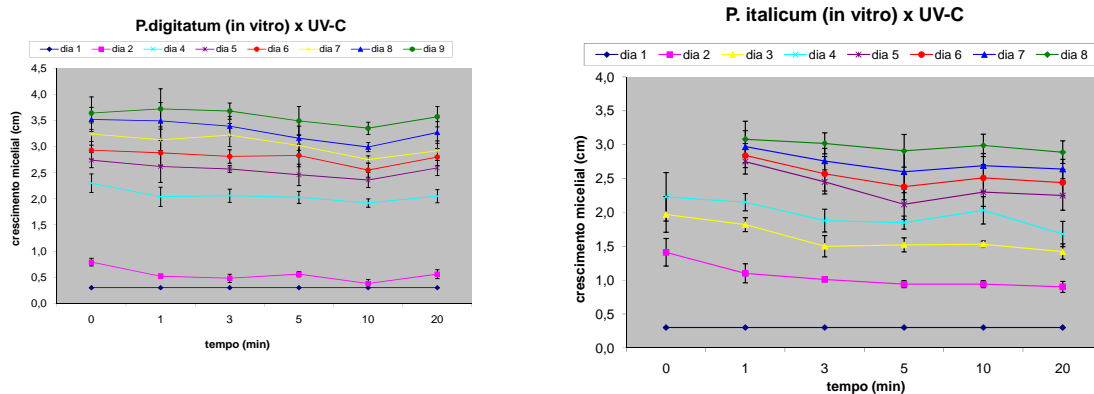
Nos testes com UV-C *in vitro*, observou-se que doses superiores a  $1,41 \text{ kJ.m}^{-2}$  apresentaram certo grau de inibição do crescimento micelial de *P. digitatum*, enquanto, para *P. italicum*, doses superiores a  $0,85 \text{ kJ.m}^{-2}$  foram as melhores. Contudo, as doses estudadas não promoveram a inibição completa dos fungos.

Nos testes com LBIM sobre laranjas inoculadas com *P. digitatum*, tanto nos frutos inoculados 2h antes do tratamento (curativo), quanto nos inoculados 24h após o tratamento (protetivo), pôde-se observar que a combinação 15Hz 60s foi a mais eficiente. O tratamento com LBIM não acarretou alterações significativas para a maioria das características físico-químicas avaliadas, porém os tratamentos de 15 Hz por 60 e 120s conservaram as frutas mais verdes do que a testemunha.

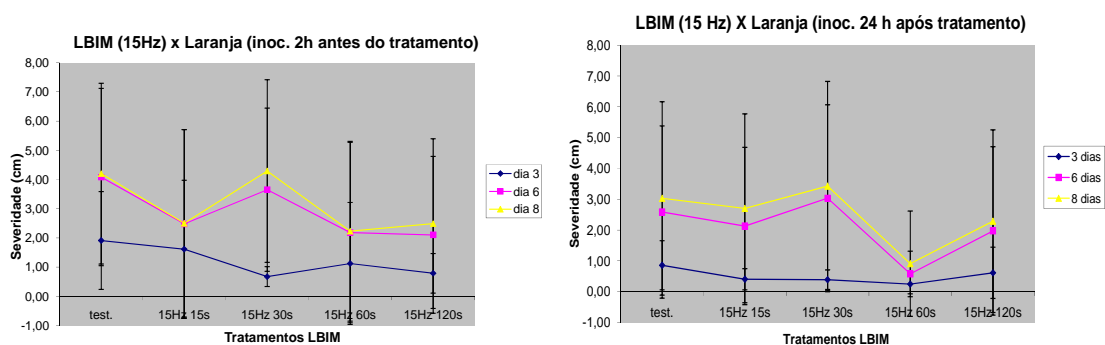
Os resultados dos testes com UV-C sobre as laranjas inoculadas, mostraram que as doses de 0,5 e  $15 \text{ kJ.m}^{-2}$  foram as melhores sobre o efeito curativo do bolor verde. Enquanto sobre o efeito protetivo nas laranjas, as doses de 0,5 e  $7,0 \text{ kJ.m}^{-2}$  foram as que apresentaram os melhores resultados. O tratamento com UV-C mostrou que quanto maior a dose aplicada, mais as laranjas apresentaram a cor da casca com tonalidade amarelo avermelhado, de modo significativo.



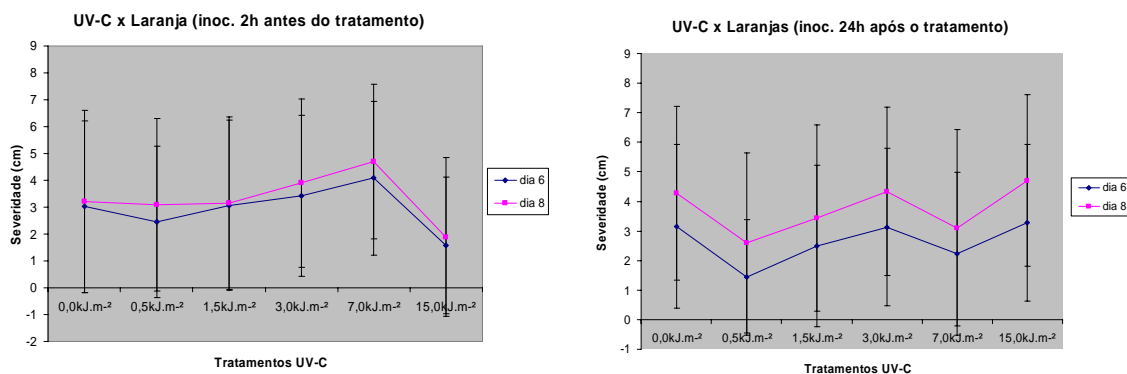
**FIGURA 1:** Comparação de crescimento entre colônias de *P. digitatum* e *P. italicum* submetidos aos mesmos tratamento de LBIM. As linhas verticais representam o desvio padrão.



**FIGURA 2:** Crescimento entre colônias de *P. digitatum* e *P. italicum* submetidos aos mesmos tratamento de UV-C. Os tempos apresentados no eixo X são referentes aproximadamente a 0,00kJm<sup>-2</sup>, 0,30kJm<sup>-2</sup>, 0,85kJm<sup>-2</sup>, 1,45kJm<sup>-2</sup>, 2,80kJ m<sup>-2</sup>, 5,45kJ m<sup>-2</sup>, respectivamente. As barras verticais representam o desvio padrão da média de cinco repetições.



**FIGURA 3:** Testes *in vivo* com LBIM. No primeiro a inoculação ocorre 2h antes do tratamento, e no segundo 24h depois. As barras verticais representam o desvio padrão da média de 16 repetições.



**FIGURA 4:** Comparação de diferentes testes in vivo com UV-C. No primeiro a inoculação ocorre 2h antes do tratamento, e no segundo 24h depois. As barras verticais representam o desvio padrão da média de 15 repetições.

## CONCLUSÃO

- ✓ Os resultados mostraram que nos testes com LBIM *in vitro*, o tratamento 15Hz 15s apresentou os melhores resultados quanto a inibição do crescimento micelial dos dois fungos. Com UV-C, as doses acima de 1,41kJ.m<sup>-2</sup> e 0,85kJ.m<sup>-2</sup> foram as mais eficientes para *P. digitatum* e *P. italicum*, respectivamente.
- ✓ Nos testes com LBIM em laranjas inoculadas com suspensão de esporos de *P. digitatum*, tanto sobre efeito curativo como protetivo, a combinação 15Hz 60s foi a mais eficiente. Com UV-C, as doses de 0,5 e 15 kJ.m<sup>-2</sup> foram as melhores sobre o efeito curativo do bolor verde e as doses de 0,5 e 7,0 kJ.m<sup>-2</sup>, as melhores sobre o efeito protetivo nas laranjas.
- ✓ Os tratamentos com LBIM não acarretaram alterações significativas para a maioria das características físico-químicas avaliadas, porém os tratamentos de 15 Hz por 60 e 120s conservaram as frutas mais verdes do que a testemunha. Enquanto que, com a radiação UV-C, observou-se que quanto maior a dose aplicada, mais as laranjas apresentaram a cor da casca com tonalidade amarelo avermelhado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007. 382p.
- FRANCO, D.A.S.; BETTIOL, W. Efeitos de Produtos Alternativos para o Controle de Bolor Verde (*Penicillium digitatum*) em Pós-Colheita de Citros, 2002.
- MENEZES, M. **Guia Prático para Fungos Fitopatogênicos**. 2.ed.rev. e ampl. - Recife:UFRPE, Imprensa Universitária, 2004. 183p.:il.